LA MESURE EN CONTINU POUR LA SURVEILLANCE DES ALGUES TOXIQUES

Rapport d'étude
Convention n°06 0999

Avec le financement de l'Agence de l'Eau Seine Normandie

SOMMAIRE

1. CONTEXTE ET OBJECTIFS 5

2. MOYENS D'ESSAIS 6

2.1 Site expérimental retenu 6

2.2 Présentation et mise en place des capteurs 7

3. METHODOLOGIE D'ESSAIS 10

3.1 Sonde MicroFlu Blue 10

3.2 Capteur d'alerte AQUAPOD 10

4. RESULTATS 12

4.1 Suivi algal de l'eau du lac et de l'eau brute en entrée usine 12

4.2 Suivi de la phycocyanine avec la sonde MicroFlu blue 14

4.3 Essais du capteur AQUAPOD 15

5. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES 20

1. CONTEXTE ET OBJECTIFS

Parmi les algues microscopiques, les **Cyanobactéries, appelées Cyanophycées ou algues « bleues »** en raison de leur pigmentation bleue-verte (cf Figure 1), posent le plus de problèmes aux gestionnaires de plans d'eau destinés à des usages récréatifs ou à la potabilisation.
Comme toutes les algues, elles sont caractérisées par un potentiel de développement foisonnant brutal appelé « bloom » dans des ressources hydriques stagnantes, comme des lacs, des barrages. Ce bloom (cf Figure 2) se déclenche lorsque la qualité de l'eau se dégrade (eutrophisation), que la température et l'ensoleillement augmentent fortement et durablement (en été-automne).

Figure 1 : *Mycrocystis*

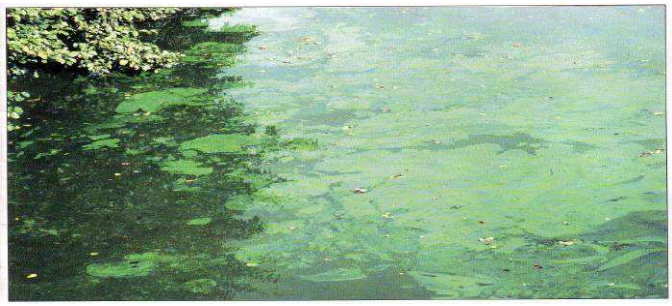


Figure 2 : Bloom algal dans une ressource

Outre les désordres organoleptiques (goût prononcé de « terre-moisi ») et les dysfonctionnements du traitement provoqués par ces algues consommatrices en oxydants et « colmatantes » en raison de leur taille élevée, l'inconvénient majeur est leur risque toxique.

Certaines cyanobactéries peuvent produire des toxines comme les **microcystines** qui sont des **hépato toxines** susceptibles d'être libérées par certaines espèces (*Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Planktothrix* et *Nostoc*) lors de la lyse des cellules algales ou à leur mort.
La forme LR de la microcystine est soumise à une réglementation depuis 2001. Sa Limite de Qualité selon le Code de la Santé Publique de 1 µg/L s'étend à la « microcystine totale » depuis janvier 2007 (Arrêté du 11 janvier 2007).

Comme tout traiteur d'eau potable, le Groupe SAUR est régulièrement amené à faire face à risque des pollutions algales dans les ressources qu'il exploite (eaux de surface et surtout barrages) (Nakache F. *et al.*, 2001, Nakache F. *et al.,* 2005, Lénès D. 2005).

Face à ce constat, le Groupe SAUR a engagé depuis plusieurs années des actions visant à surveiller les ressources et à renforcer les filières de traitement lorsque cela est nécessaire.
Les campagnes d'analyses réalisées dans ce cadre ont permis de mettre en évidence que :

- la prolifération des cyanobactéries peut être rapide mais elle est difficile voire impossible à prévoir,
- il n'y a pas de relation entre quantité d'algues totales, cyanobactéries et toxines,
- la concentration en microcystines dans les eaux brutes est généralement faible. Ces toxines sont en effet faiblement secrétées en dehors des cellules.
- la concentration exogène mesurée correspond donc aux différentes algues mortes et lysées.

Il apparaît donc qu'une **surveillance en continu des ressources en eau** peut s'avérer très utile pour améliorer la maîtrise globale du risque « Cyanobactéries ». Pour cette raison, la Direction Recherche & Développement de SAUR a lancé en 2006, avec le soutien financier de l'Agence de l'Eau Seine Normandie, un programme de recherche pour tester différents capteurs susceptibles d'être utilisés sur les usines pour la surveillance algale.
Deux capteurs ont été retenus en 2006 :

- la **station d'alerte AQUAPOD** de la société HOCER commercialisée depuis 2003 et destinée à la détection de micropolluants organiques (pesticides, hydrocarbures…) dans les eaux. Le principe analytique mis en œuvre consiste en une pré-concentration couplée à une spectrométrie UV (Cavalin G *et al*, 2001, Delmas R. et *al.*, 2004). Deux stations AQUAPOD fonctionnent aujourd'hui sur des usines SAUR : à Férel (56) et à Coulonges (85). Le coût d'achat de l'AQUAPOD est de 35 k€ à 45 k€. Dans la mesure où la microcystine est détectable par UV, l'objectif de la recherche est d'évaluer si l'appareil peut être utilisé pour détecter et quantifier la microcystine dissoute.

- La **sonde fluorimétrique MICROFLU Blue** de la société TRIOS, commercialisée en France par AquaMS, destinée à la surveillance algale et plus particulièrement à la surveillance des cyanobactéries. A noter que cette sonde est utilisée en laboratoire par Luc Brient de Rennes pour le suivi algal. Cette sonde mesure la concentration en phycocyanine, pigment bleu spécifique des cyanobactéries, dans l'eau. Le fournisseur, avec l'appui de Luc Brient, annonce que cette concentration est corrélée à la quantité de cyanobactéries présentes dans le milieu. La sonde MICROFLU est simple à utiliser et son coût d'achat est de 7 k€. L'objectif pour SAUR est de vérifier les performances annoncées par le fournisseur dans des conditions d'exploitation industrielles et d'évaluer s'il est envisageable d'utiliser ce matériel pour le suivi de l'eau brute en entrée d'usine.

L'enjeu de ce programme est de fournir à SAUR les moyens de surveiller en continu la qualité de l'eau qui alimente les usines de potabilisation pour optimiser et sécuriser la production d'eau potable tout en limitant les dépenses analytiques.

2. MOYENS D'ESSAIS

2.1 Site expérimental retenu

Afin de tester ces capteurs, il a été nécessaire de sélectionner une usine de potabilisation régulièrement exposée à des pollutions en cyanobactéries et sur laquelle il était techniquement envisageable d'implanter les matériels à tester.
Le choix s'est porté sur une usine bretonne située à Ploërmel, dans le Morbihan (56) : l'usine du « Lac au Duc » alimentée par deux ressources (cf Figure 4) :

- une eau de barrage : l'eau du Lac au Duc, le plus grand barrage naturel de Bretagne, également destiné à des usages récréatifs,
- et une eau de rivière : l'Oust.

Figure 4 : Vues de la station de Ploërrmel et des deux ressources

L'eau du Lac présente en plus l'intérêt de bénéficier, depuis de longues années, d'un suivi physico-chimique et algal complet en raison de son usage à des fins récréatives (baignade).

La filière de traitement de l'usine comporte 3 étapes : une clarification classique complète, suivie d'un affinage (Carboflux® et filtration sur sable et traitement des nitrates) et d'une désinfection (cf Figure 5).

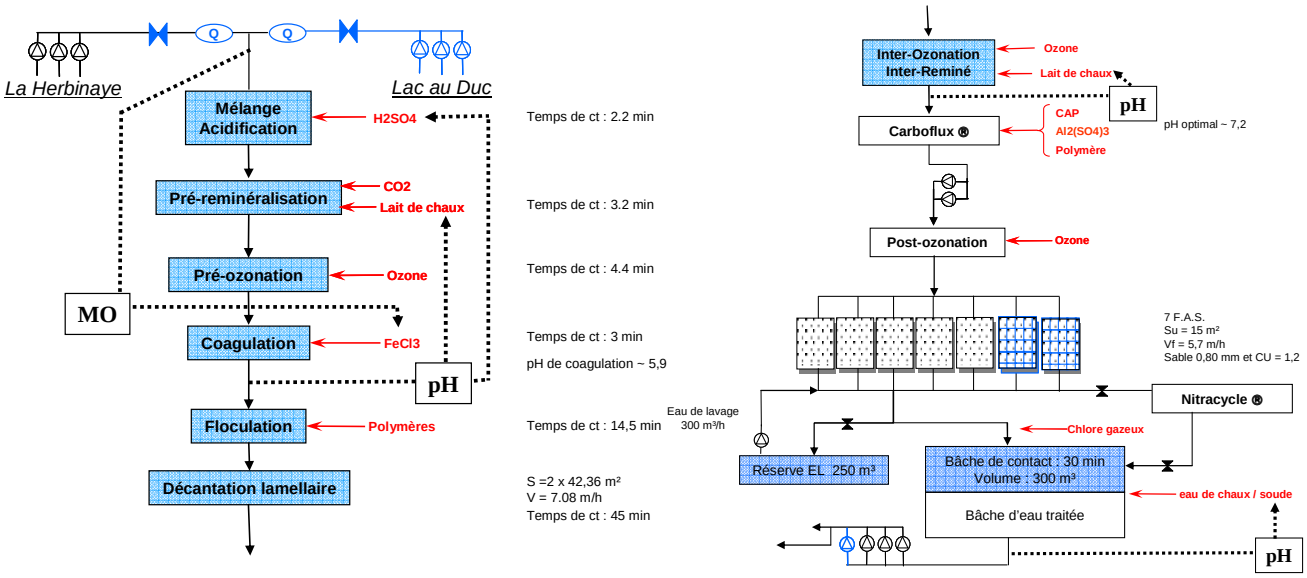


Figure 5 : Filière de traitement de la station du Lac au Duc de Ploërmel

2.2 Présentation et mise en place des capteurs

Compte tenu des objectifs du programme de recherche, les deux capteurs ont été installés dans le local eau brute côté Lac au Duc.

Sonde MicroFlu blue

Le capteur MicroFlu Blue (cf Figure 6) est constitué d'une sonde qui réalise la mesure et d'un boitier de commande et de lecture (modèle DU4). La fiche technique et le manuel d'utilisation sont fournis en annexe 1.

Figure 6 : Sonde de mesure MicroFlu Blue

La sonde mesure la phycocyanine, pigment spécifique des cyanobactéries, et indique donc une concentration en phycocyanine en µg/L.
La sonde peut être utilisée pour des mesures ponctuelles à partir du boitier DU4. Dans ce cas, les mesures sont affichées mais non enregistrées. Dans cette configuration, l'alimentation électrique se

fait soit par piles (attention à la durée de vie des piles ~1h), soit via une batterie dont l'autonomie est d'environ 8 heures.
La sonde peut aussi être installée sur site au moyen d'un boitier spécifique qui permet à la fois l'alimentation de la sonde sur le secteur et l'obtention d'un signal de sortie 4-20 mA. Ce signal peut être envoyé vers un automate et le système de supervision de l'usine (lecture et archivage des données). Dans cette configuration industrielle, le boitier DU4 n'est plus utilisé et la lecture directe de la mesure au niveau de la sonde n'est donc plus possible.

La documentation technique précise les conditions d'utilisation optimales de la sonde.
Mise en garde : TRIOS ne spécifie pas de conditions particulières par rapport à la qualité de l'eau analysée. Or une turbidité élevée peut être un paramètre limitant l'utilisation du matériel. L'agitation de l'eau au point de mesure peut également avoir une influence sur la mesure obtenue.

Au cours de cette étude, la sonde a été utilisée essentiellement sur l'usine de Ploërmel, dans sa configuration industrielle, avec report des mesures au niveau de l'automate de l'usine. La mise en place de la sonde a été effective à partir de début juillet 2006.

La sonde a été tout d'abord placée dans un bac disponible sur l'usine (cf Figure 7). Début août 2006, l'implantation de la sonde a été modifiée suivant les conseils de L. Brient (Universtié de Rennes - assure l'assistance technique pour AquaMS) de manière à assurer la verticalité du faisceau (cf Figure 8). Dans chaque configuration, le bac est alimenté en eau brute provenant directement du lac au Duc. L'eau est évacuée du bac, à la fois par le fond et par surverse.

Figure 7 : Sonde MicroFlu en juillet 2006

Figure 8 : Sonde MicroFlu après le 7/08/06

Capteur AQUAPOD

L'AQUAPOD fait partie de la catégorie des capteurs d'alerte et utilise la spectrométrie UV comme méthode de détection. La durée d'une analyse est d'environ 45 mn. En fonctionnement automatique, l'AQUAPOD est donc capable de réaliser environ une analyse par heure. En pratique, la fréquence d'analyses est choisie par l'utilisateur, classiquement entre 3 à 6 analyses par jour. Après chaque analyse, l'AQUAPOD fournit la concentration en µg/L du ou des micropolluants recherchés. En cas de détection d'un micropolluant inconnu, l'AQUAPOD signale la pollution sans l'attribuer à une molécule identifiée.
Une présentation détaillée de l'AQUAPOD est fournie en annexe 2.

L'AQUAPOD est constitué principalement de deux modules : un module de pré-concentration des micropolluants sur cartouche et un module de détection (spectromètre UV). S'ajoutent à ces deux modules un PC pour piloter l'ensemble du système et enregistrer les résultats d'analyses, et un stockage de solvants (cf figure 9).

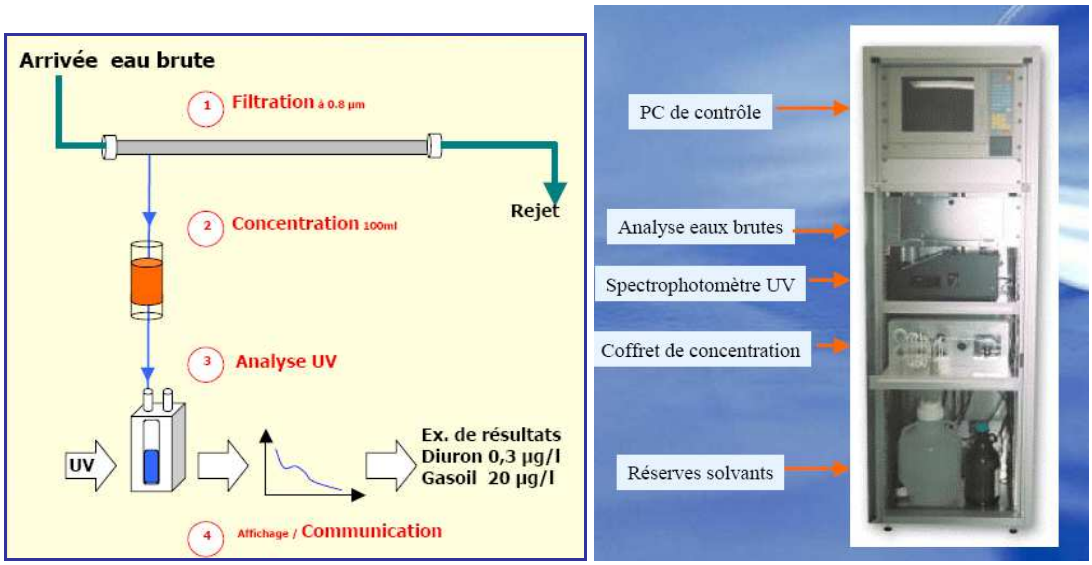


Figure 9 : Principe de l'AQUAPOD et Principaux éléments constitutifs de l'AQUAPOD (Source HOCER IS)

En amont de l'AQUAPOD, un système de filtration assure l'élimination des particules susceptibles de colmater les cartouches de pré-concentration. Cette unité de filtration est fournie par HOCER et se compose d'un pré-filtre à 0,8 mm et d'un barreau filtrant en céramique à 1 µm (cf figure 9).

Pour implanter l'AQUAPOD à Ploërmel, un piquage a été réalisé sur la canalisation d'arrivée d'eau brute en entrée usine. Un tuyau de petit diamètre alimente l'AQUAPOD depuis la sortie du barreau filtrant (cf figure 10). Un échantillon d'eau de 100 mL est nécessaire pour chaque analyse.

Piquage eau brute | Pré-filtre et barreau filtrant | AQUAPOD à Ploërmel

Figure 10 : Mise en place de l'AQUAPOD sur l'usine de Ploërmel

L'AQUAPOD peut également être utilisé en mode manuel pour analyser d'autres eaux que celle du Lac au Duc. Soit la matrice d'eau est exempte de particules et l'échantillon peut être pompé directement depuis un flacon dans l'AQUAPOD. Soit l'eau contient des matières en suspension et il est nécessaire de filtrer l'eau au préalable à l'aide du barreau.

3. METHODOLOGIE D'ESSAIS

3.1 Sonde MicroFlu Blue

L'eau du Lac au Duc bénéficie tous les ans (d'avril à octobre) d'un suivi complet (physico-chimique et algal) géré par différents partenaires locaux (Université de Rennes 1, Communauté de Communes, DD 56, SAUR…) en raison de l'usage récréatif de ce plan d'eau.

En plus de ce suivi, un programme d'analyses hebdomadaire sur l'arrivée usine d'eau brute du Lac a été réalisé en lien avec le Laboratoire SAUR de Maurepas, durant la période de notre étude (de mai à octobre 2006).

Ce programme comprenait les analyses suivantes : nombre d'algues totales, % de cyanobactéries, nombre de cellules de cyanobactéries, microcystines LR, YR, RR.

Pendant la même période, la sonde a été testée en conditions réelles pour suivre l'évolution de la phycocyanine dans l'eau brute. Les mesures de phycocyanine ont été enregistrées pour permettre de définir si elles sont corrélées aux analyses algales.

3.2 Capteur d'alerte AQUAPOD

Une pré-calibration de l'AQUAPOD est nécessaire sur chaque matrice d'eau analysée de manière à disposer de l' « empreinte spectrale » de l'eau sans pollution. Par ailleurs, un spectre type du ou des micropolluants à analyser est indispensable pour permettre sa détection et son dosage.

Dans le cas particulier de la microcystine, il est connu que la détection UV est possible à 239 nm. Néanmoins, un travail préliminaire a été réalisé dans la mesure où ce micropolluant ne fait pas partie des micropolluants validés par le fournisseur du matériel. Ce travail a consisté à définir les paramètres optimaux de l'étape de pré-concentration sur cartouche afin d'obtenir le meilleur rendement d'extraction de la microcystine tout en assurant des niveaux de purification élevés de l'eau vis-à-vis de la matière organique.

Dans cet objectif, les essais ont été divisés en deux étapes:

- une première étape où les solutions testées sont des échantillons dopés en microcystine LR pure afin de régler le protocole analytique et d'évaluer les performances de l'AQUAPOD. Différents types d'eau ont été utilisés : eau d'Evian, eau filtrée sable et eau brute issue du Lac au Duc (cf figure 11).
- une deuxième étape où l'AQUAPOD fonctionne en mode automatique sur l'eau brute provenant du lac.

Tous les dopages ont été réalisés dans une plage de concentration en microcystine dissoute de 0 à 20 µg/L afin de définir la limite de détection de la méthode et de vérifier la possibilité de travailler sur une gamme représentative de concentrations observables en cas de blooms importants.

Les échantillons dopés ont été analysés avec l'AQUAPOD à Ploërmel et envoyés en parallèle au laboratoire SAUR de Vannes pour détermination de la concentration en microcystine. La méthode uitlisée fait référence à la norme ISO/FDIS 20179 de 2005. Il s'agit d'une extraction sur cartouche type C18 puis d'une séparation par chromatographie en phase liquide suivie enfin d'une détection à la longueur d'onde de 239 nm.

Entre les périodes d'essais en dopage, l'AQUAPOD a fonctionné sur l'eau du lac en mode automatique dans sa configuration habituelle de capteur d'alerte.

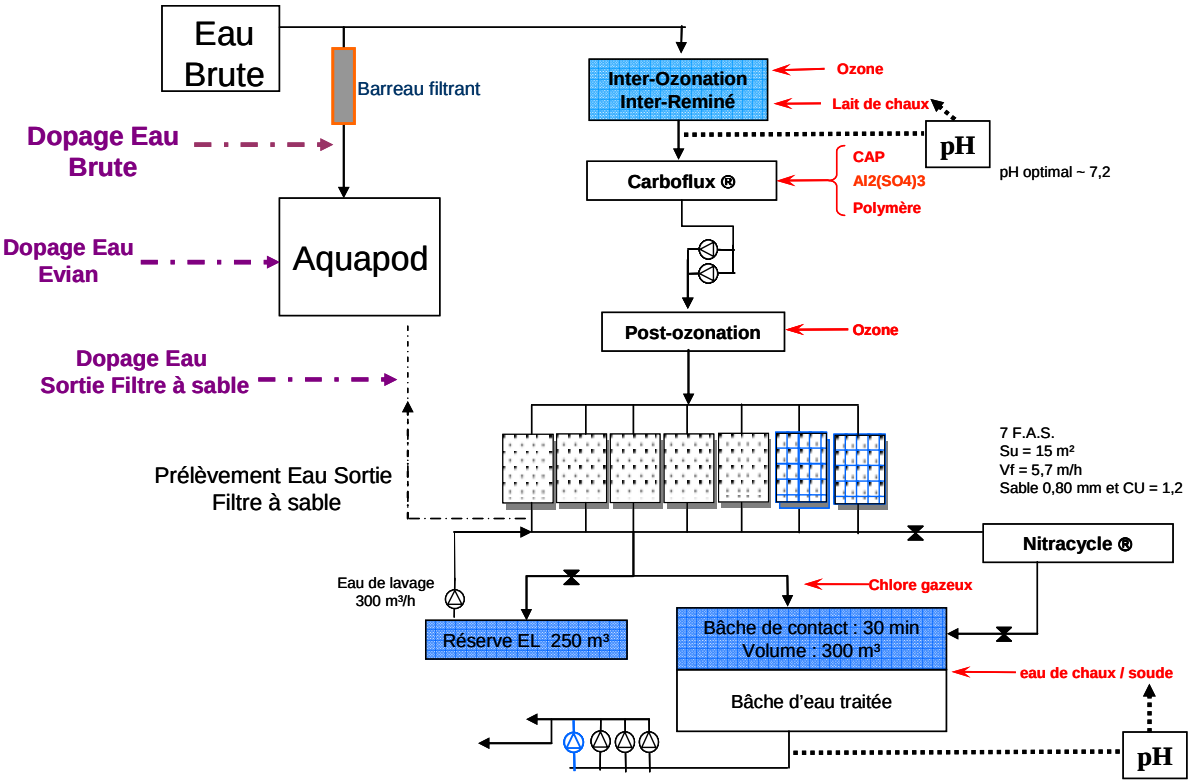


Figure 11 : Différents types d'eau utilisés pour les dopages

4. RESULTATS

4.1 Suivi algal de l'eau du lac et de l'eau brute en entrée usine

Les données concernant le Lac au Duc ont été fournies par Luc Brient de l'Université de Rennes en charge du suivi du plan d'eau par la collectivité de Ploërmel.
Le suivi au point P1 correspondant à la zone de baignade et le plus proche de la prise d'eau (cf figure 12) a mis en évidence un pic en cyanobactéries fin juillet (~1.000.000 cellules/mL), avec cependant moins de 1 µg/L de microcystine LR. La concentration en cyanobactéries est restée ensuite peu élevée avant de remonter mi-septembre mais sans atteindre les valeurs de juillet.

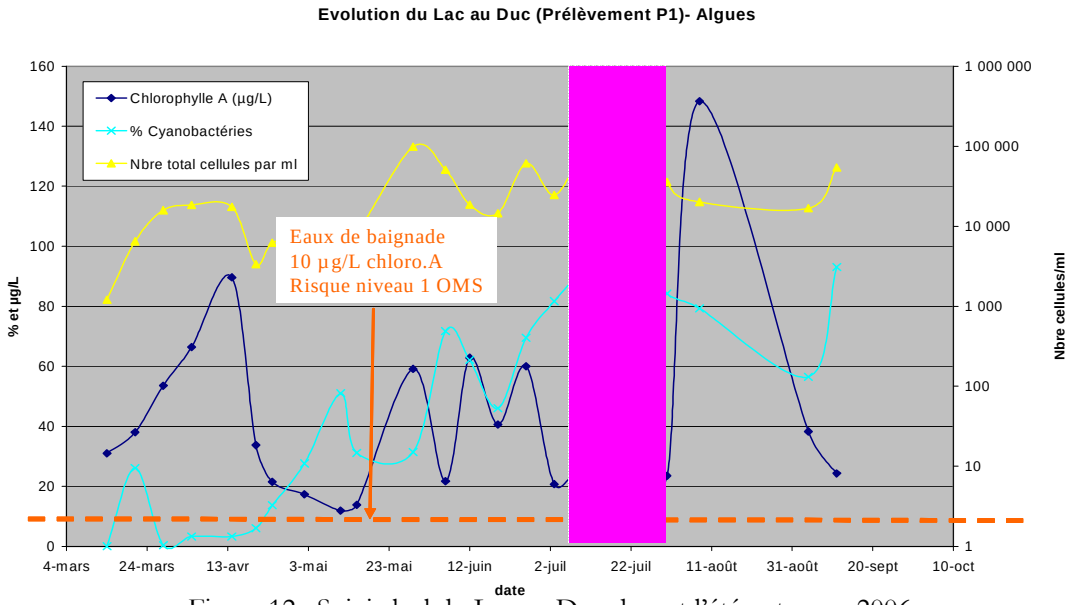
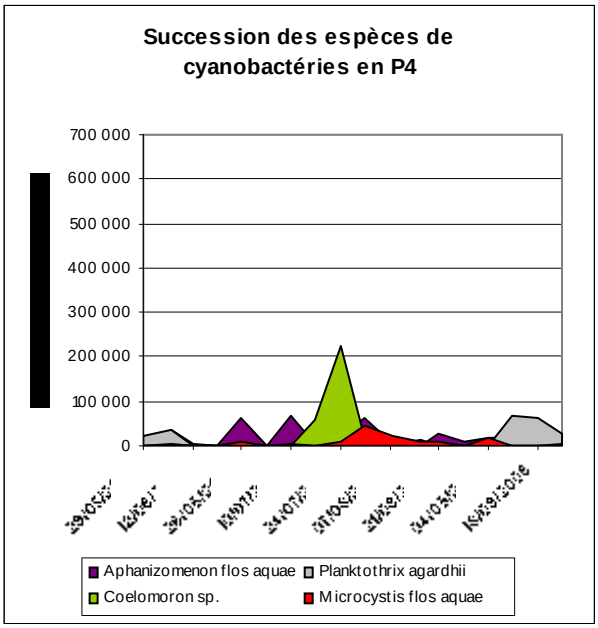
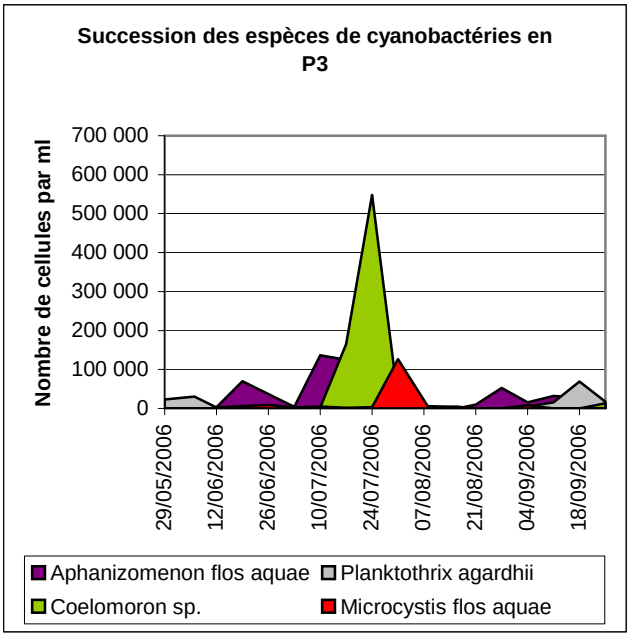


Figure 12 : Suivi algal du Lac au Duc durant l'été-automne 2006

En chaque point de prélèvement, un suivi taxonomique permet d'identifier les types et quantités de cyanobactéries présentes au cours de l'été 2006 (cf figure 13) en chaque point d'analyse.





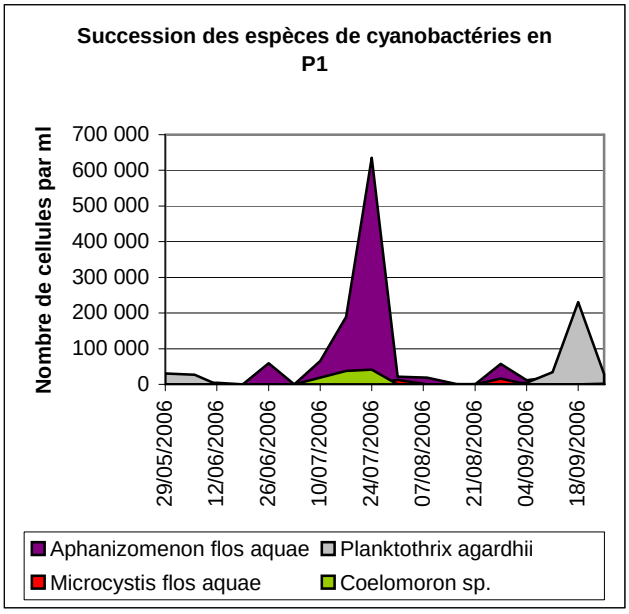


Figure 13 : Suivi des cyanobactéries sur le lac au Duc en 2006

Ce suivi met en évidence que l'espèce qui a prédominé au point P1 lors du bloom de juillet 2006 est *Aphanizomenon flos aquae* dont la concentration a atteint plus de 600.000 cellules/mL.

Dans l'eau brute en entrée usine, le nombre de cellules de cyanobactéries suit la tendance observée au point P1 (cf figure 14). Il est à noter que le suivi des microcystines dans l'eau brute montre que les concentrations en microcystines totales et dissoutes sont restées très faibles puisqu'elles n'ont jamais atteint la limite de détection de la méthode : 0,2 µg/L.

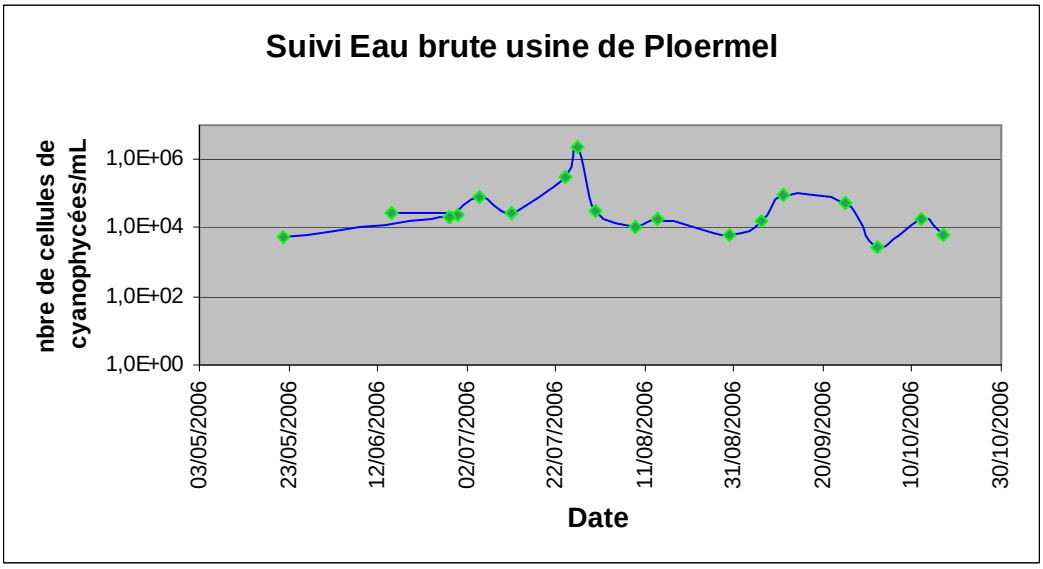


Figure 14 : Suivi algal de l'arrivée usine d'eau brute (Lac) durant l'été-automne 2006

L'année 2006 n'a donc pas été une année à cyanobactéries, heureusement pour les distributeurs d'eau et les baigneurs, malheureusement pour notre programme d'essais.

Concernant la phycocyanine, le laboratoire de Rennes est équipé d'une sonde MicroFlu blue et réalise des mesures de phycocyanine en parallèle des analyses taxonomiques classiques. Ces mesures ont permis de tracer l'évolution de la concentration en phycocyanine au point P1 au cours de l'été

2006 (cf figure 15). A noter que la concentration était très élevée au moment du bloom (jusqu'à 180µg/L) avant de redescendre à des valeurs plus usuelles de l'ordre de 30 µg/L.

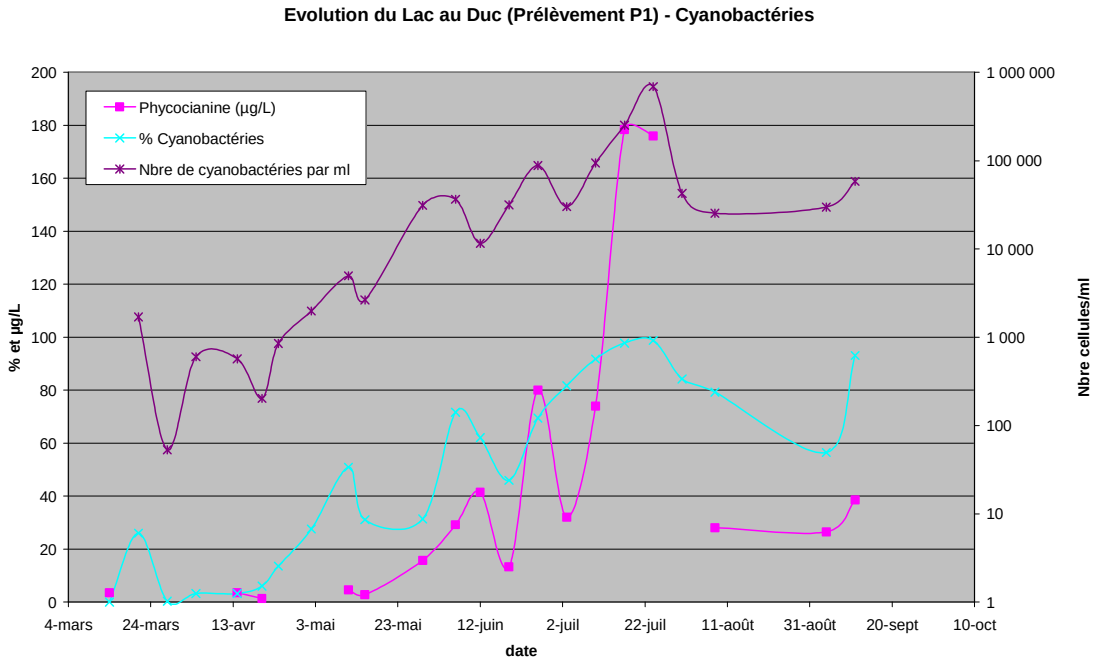


Figure 15 : Suivi phycocyanine au point P1 durant l'été 2006

4.2 Suivi de la phycocyanine avec la sonde MicroFlu blue

En préambule à la présentation des résultats, il est nécessaire de noter que les essais avec la sonde Microflu blue ont été très « chaotiques » en 2006 en raison de l'absence d'informations techniques claires et précises sur un certain nombre de sujets. Parmi les difficultés les plus importantes, on peut citer :

- une méconnaissance du matériel, notamment sur les conditions de calibration et de mise en œuvre ayant conduit à une mise en place non optimale (interférence avec le matériau du bac ?, influence du régime d'écoulement d'eau dans le bac ?, fréquence de nettoyage de l'optique ?, influence de la turbidité de l'eau brute ?),
- la **saturation du signal à 100µg/L** au cours du bloom de juillet, la plage de mesure étant inadaptée (cf valeurs mesurées au laboratoire de rennes sur la figure 15). Ce problème n'a pas pu être résolu en 2006 à cause d'un diagnostic tardif. Sur ce point, l'assistance technique a été très insuffisante. SAUR n'a résolu le problème qu'en direct avec le fournisseur allemand TRIOS fin 2006. Celui-ci a pu modifier les réglages de la sonde afin qu'elle travaille sur une plage agrandie : 0-200µg/L.
- l'obtention d'un **signal perturbé,** voire très perturbé, notamment à partir de fin septembre. L'origine des perturbations n'a pas pu être identifiée. Ceci a conduit SAUR R&D à demander un check-up complet du matériel à TRIOS fin 2006.

En dépit de ces soucis, un enregistrement des mesures a été réalisé (cf figure 16). La comparaison aux mesures réalisées par le laboratoire de Rennes ne montre pas d'incohérences majeures même si la correspondance des valeurs n'est pas parfaite. Il est probable que la précision de la sonde ne soit pas excellente sur les faibles niveaux de concentrations en algues.
En tout état de cause, les résultats de 2006 ne permettent pas de tirer des conclusions fiables sur la capacité de la sonde à constituer un outil sûr pour le suivi en continu des cyanobactéries dans une eau brute à l'entrée d'une usine.

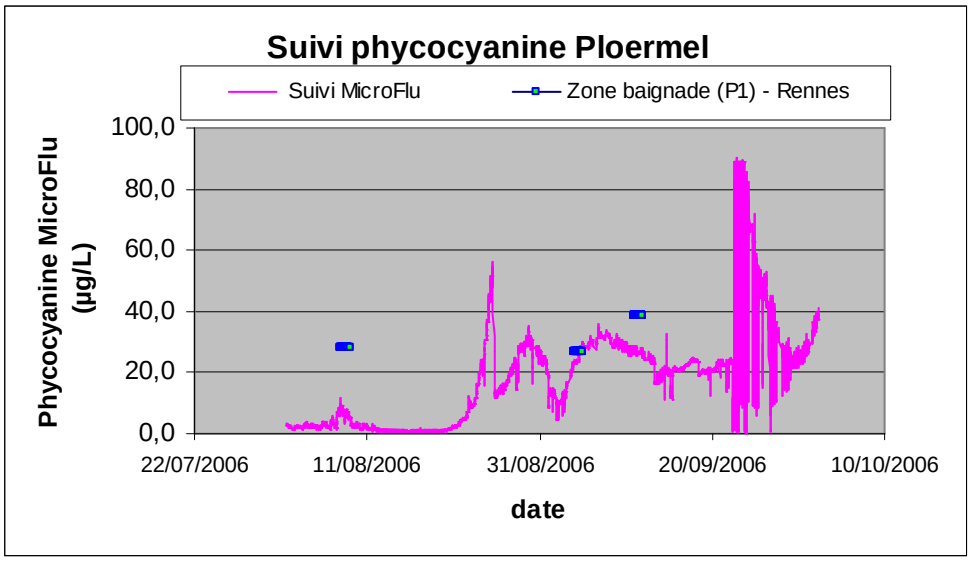


Figure 16 : Suivi phycocyanine dans l'eau brute provenant du Lac au Duc avec la sonde MicroFlu blue au cours de l'été 2006

4.3 Essais du capteur AQUAPOD

Adaptation des paramètres analytiques à microcystine

Une première série d'essais en eau d'Evian a tout d'abord été effectuée afin de valider la faisabilité de l'analyse de la microcystine sur l'AQUAPOD. Il s'agissait en particulier de fixer les paramètres de fonctionnement optimaux de l'étape de pré-concentration. L'objectif était d'optimiser les performances analytiques en éliminant au mieux le bruit de fond lié aux matières humiques tout en gardant un rendement d'extraction de la microcystine satisfaisant.

Les réglages ont porté sur les paramètres suivants :

- la concentration en méthanol utilisée pour le conditionnement des échantillons dopés. Le conditionnement est en effet nécessaire pour éviter l'adsorption de la microcystine sur les parois des flacons en verre. A noter que l'usage de matériaux plastiques est à éviter en raison des impuretés qu'ils peuvent contenir.
- la nature des solutions de lavage et les volumes correspondants.

Les premiers essais ont montré que les concentrations en méthanol de 50 ml/L utilisées par HOCER étaient trop importantes. En effet dans ces conditions, la microcystine ne se fixe pas sur la cartouche de pré-concentration. La concentration en méthanol a été diminuée progressivement pour aboutir à une valeur optimale à **0,1 ml méthanol / L**.

En outre, compte tenu que la microcystine se fixe moins fortement que les autres micro-polluants sur la cartouche, il a été nécessaire de revoir les paramètres des deux étapes de lavage qui sont successivement mises en œuvre avant l'élution.

- 1re étape de lavage (eau + acétonitrile) : elle influe directement sur la purification de l'échantillon. Plus la concentration en solvant est importante, plus le niveau d'absorbance de l'échantillon est faible (cf figure 17). Par contre, plus la concentration en solvant est forte et plus les pertes en microcystine sont importantes dans la phase de lavage. Un optimum a donc été trouvé avec une concentration à **2,5% de solvant dans l'eau**. Le volume de lavage de **20 mL** a été conservé, comme pour le protocole d'analyse usuel de l'AQUAPOD.

- 2ème étape de lavage (**eau HPLC**) : elle permet d'affiner le lavage. Afin de compenser, en partie au moins, la perte d'efficacité du 1er lavage, le volume de solution de lavage à l'eau a été augmenté de 7 mL à **20 mL**.

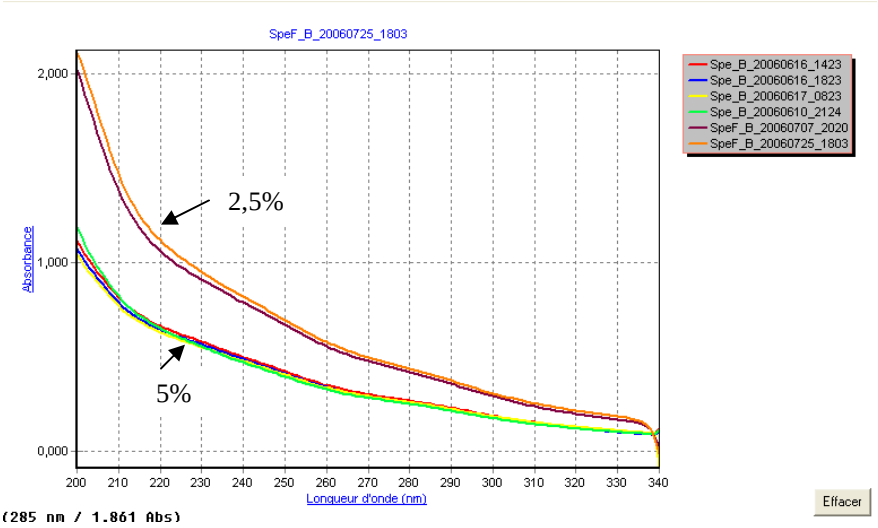


Figure 17 : Comparaison de deux séries de spectres d'eau brute du lac avec deux concentrations différentes en solvant dans la solution de lavage (2,5% et 5%)

Ainsi, en raison des propriétés chimiques de la microcystine, les réglages obtenus par SAUR pour microcystine sont différents de ceux utilisés sur l'AQUAPOD lorsque l'appareil fonctionne dans son champ d'application usuel, pesticides et hydrocarbures.

Tests en dopage sur différentes matrices d'eau

A partir de ces réglages, les essais ont ensuite consisté à effectuer des mesures sur trois matrices d'eau différentes de manière à quantifier les performances de l'AQUAPOD sur l'analyse de microcystine (linéarité, seuil de détection, répétabilité) en fonction de la charge en matières humiques de l'eau analysée : eau d'Evian, eau de l'usine en sortie du filtre à sable et eau brute issue du lac (prélevée en octobre).
Pour chaque matrice d'eau, il a été nécessaire de constituer au préalable une banque de spectres blancs, c'est-à-dire sans microcystine, afin de fournir à l'AQUAPOD une référence pour les calculs de déconvolution.

De la même manière, un spectre de microcystine de référence a été entré dans l'appareil. Ce spectre de référence retenu correspond au spectre d'un échantillon d'eau d'Evian dopée avec 14,6 µg/L en microcystine et conditionné avec 0,1 mL de méthanol/L. Ce choix a l'avantage de tenir compte, indirectement, du rendement d'extraction de la microcystine lors de l'étape de pré-concentration sur cartouche.

A partir des spectres des eaux dopées (cf figure 18), le logiciel AQUAPOD a permis de quantifier la concentration en microcystine de l'échantillon. Les résultats des mesures AQUAPOD ont été comparés aux analyses réalisées sur les mêmes échantillons par le laboratoire de Vannes.

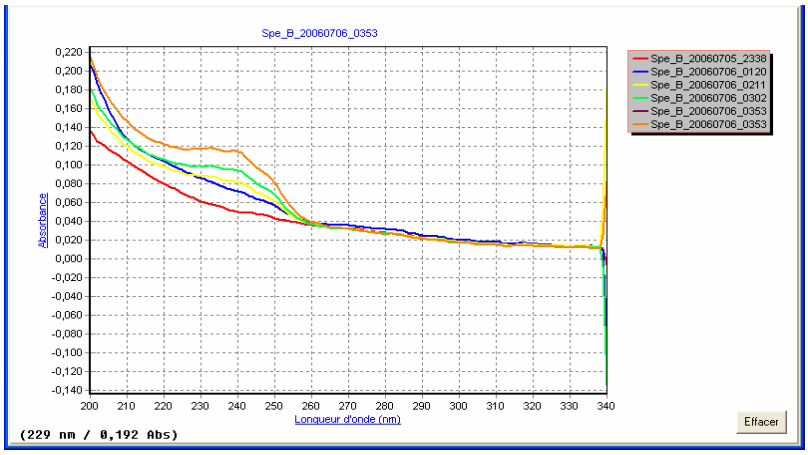


Figure 18 : Spectres obtenus par dopage d'échantillons d'eau d'Evian (0 – courbe rouge - à 20µg/L – courbe orange)

Avec une matrice eau d'Evian, les résultats obtenus conduisent à une linéarité acceptable sur le domaine de concentration testé (coefficient de régression de 0,96- cf figure 19). La limite de détection se situe vers 3µg/L. Pour les concentrations élevées, l'AQUAPOD a tendance à sous-estimer la concentration en microcystine de l'échantillon. L'origine de cette sous-estimation n'est pas clairement identifiée à ce jour.

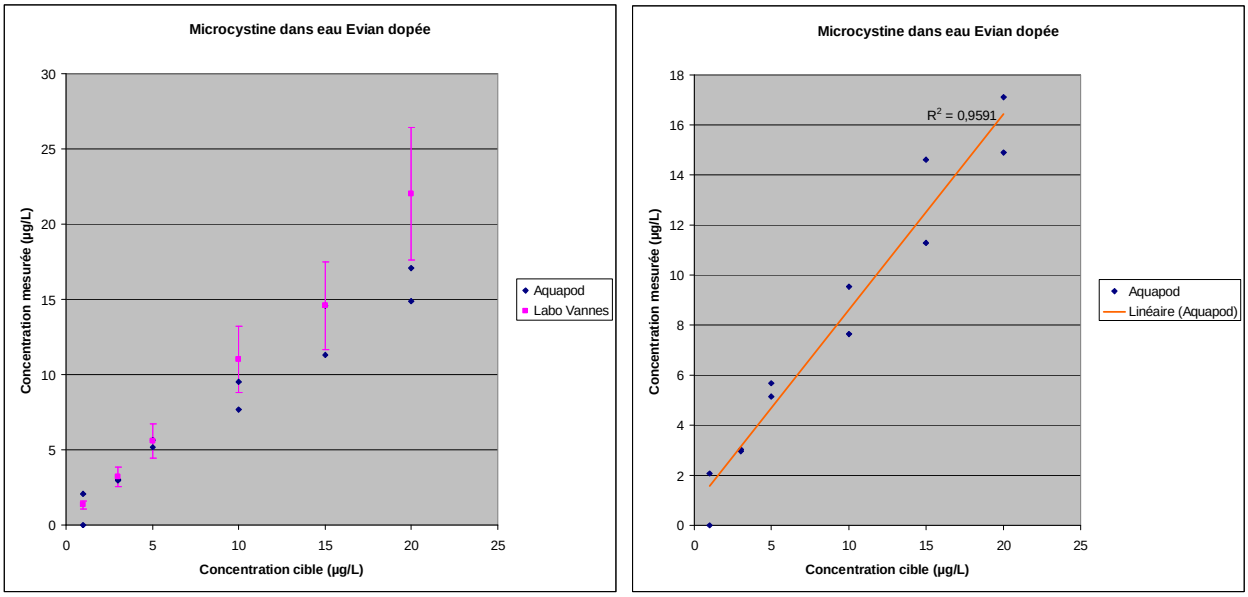


Figure 19 : Résultats 2006 sur eaux d'Evian dopées

Les tendances observées sur l'eau d'Evian se retrouvent sur les essais réalisés avec de l'eau traitée sortie filtre à sable (cf Figure 20) et avec l'eau brute (cf Figure 21). Ce résultat est positif et montre que l'étape de pré-concentration est efficace même avec une matrice organique élevée susceptible de gêner la détection. Sur ces deux types d'eau, le seuil de détection est un peu plus haut et se situe plutôt autour de 5µg/L. Ceci explique la petite perte de linéarité de la mesure sur la plage 0-20µg/L. A noter par contre que la tendance à la sous-estimation des concentrations en microcystine est moins prononcée qu'en eau d'Evian.

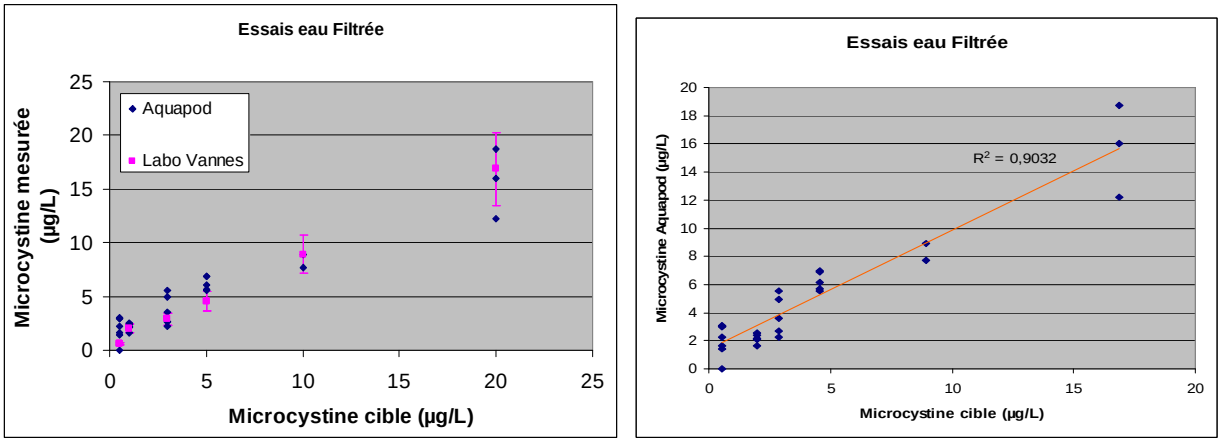


Figure 20: Résultats 2006 sur eaux filtrées sable de Ploërmel

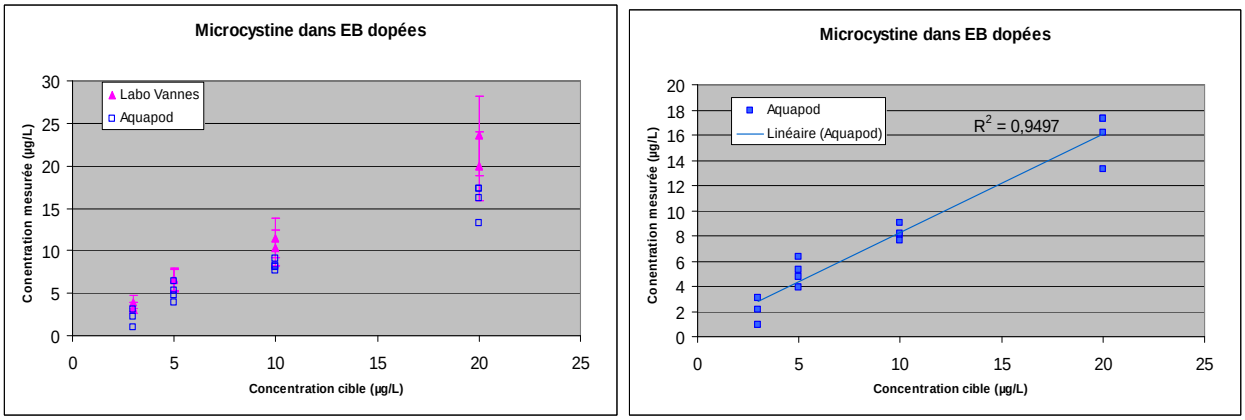


Figure 21: Résultats 2006 sur eaux brutes du Lac au Duc

Tests en mode automatique sur le suivi de l'eau brute

Dans une seconde phase d'essais, l'AQUAPOD a été testé en continu c'est-à-dire dans son mode de fonctionnement automatique habituel à raison de 4 à 6 analyses/ jour sur l'eau brute provenant du lac. L'objectif était de suivre l'évolution de la qualité de l'eau vis-à-vis des toxines d'algues pendant l'été.

Les spectres obtenus (cf figure 21) n'ont jamais montré de pollution en toxine dissoute, même lors de l'apparition du pic en cyanophycées constaté fin juillet. Ce résultat est cohérent avec les analyses d'eau brute effectuées en laboratoire sur la même période.

On peut noter qu'au cours de la période de tests (juin à octobre 2006), le niveau d'absorbance moyen des spectres a eu tendance à augmenter. Pour une utilisation optimale de l'AQUAPOD, il paraît donc nécessaire d'accumuler des spectres blancs sur une année pour représenter au mieux la variabilité de l'eau en fonction de la saison.

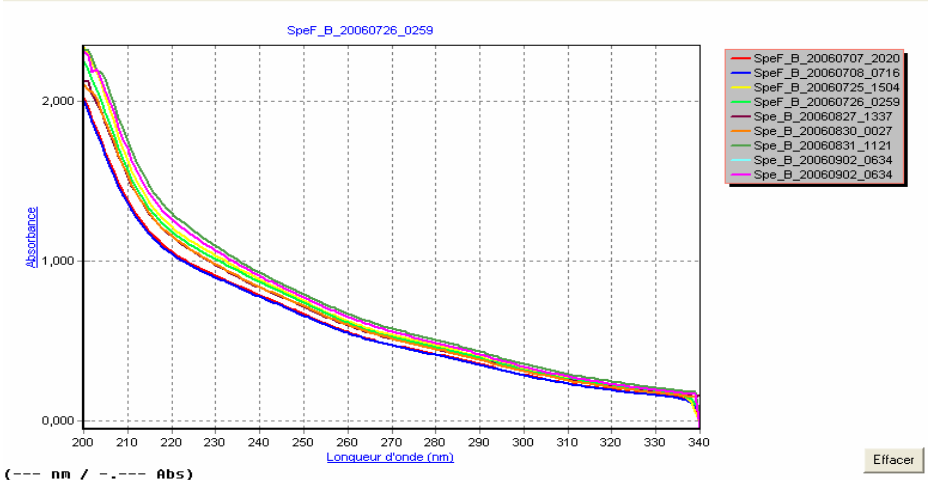


Figure 21: Spectres 2006 obtenus en mode automatique sur les eaux brutes du Lac au Duc

5. CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les résultats des essais de calibration et de validation de l'AQUAPOD sont les suivants :

- La procédure de lavage de la colonne d'extraction a dû être optimisée car les paramètres standards de l'AQUAPOD ne sont pas adaptés à la microcystine. Il a été nécessaire de trouver un compromis entre l'élimination de la matière organique et la rétention de la microcystine ce qui n'a pas été immédiat (adaptation du volume et de la composition des solvants de rinçage).
- Les spectres obtenus sur l'eau brute ont mis en évidence des variations significatives de la qualité de l'eau du Lac entre juin et octobre 2006. Il est donc primordial de constituer une banque de spectres significative pour quantifier la microcystine avec la plus grande précision possible.
- La calibration de l'appareil sur des eaux dopées a donné des résultats satisfaisants, en concordance avec une fonction d'alerte en eau brute, mais en nombre insuffisant pour en faire une analyse statistique complète.

Les essais 2006 sur la sonde MicroFlu Blue n'ont pas permis d'aboutir à des conclusions claires quant à la capacité du matériel à détecter en continu les cyanobactéries dans l'eau brute à l'entrée d'une usine.

Cette étude va se poursuivre au cours de l'année 2007 avec les objectifs suivants :

AQUAPOD

- compléter les résultats sur des eaux dopées pour être en mesure de réaliser une analyse métrologique (linéarité, limite de détection, répétabilité…).,
- vérifier la capacité de l'outil à détecter la toxine en conditions réelles sur l'eau brute provenant du Lac au Duc, si l'été 2007 est propice au développement algal,
- fournir des optimisations et recommandations pour l'utilisation de ce capteur en exploitation afin de préparer la mise en place définitive du capteur sur la station de PLOERMEL. En effet, la collectivité a fait l'acquisition de l'appareil pour mettre en œuvre une détection d'alerte sur l'usine. L'idée est d'utiliser l'AQUAPOD dans sa fonction classique « micro-polluants » du type pesticides et hydrocarbures complétée d'une fonction nouvelle sur microcystine.

MICROFLU

- recalibrer la sonde en laboratoire et la remettre en place à Ploërmel pour assurer un suivi en continu de l'eau brute au cours de l'été 2007 en parallèle du suivi algal laboratoire. Le montage sera optimisé si nécessaire en fonction des résultats des essais laboratoire

De plus, SAUR R&D vient de faire l'acquisition d'une autre sonde (FluoroProbe de la société BBE) pour travailler en 2007, non plus uniquement sur l'eau brute entrée usine, mais aussi sur les plans d'eau qui constituent la ressource.

REMERCIEMENTS

Toutes les personnes ayant eu un rôle de près ou de loin dans le déroulement de cette étude, sont vivement remerciées. Il s'agit notamment des équipes SAUR impliquées dans ce projet (techniciens R&D, de terrain, de laboratoires et chef d'usine…) et de l'Agence de l'Eau Seine Normandie qui finance une partie de ce programme de recherche.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Arrêté du 11 janvier 2007 relatif aux limites et références de qualité des eaux brutes et des eaux destinées à la consommation humaine mentionnées aux articles R. 1321-2, R. 1321-3,R. 1321-7 et R. 1321-38 du code de la santé publique, paru au JO du 6 février 2007.

- Cavalin G., Dussauze J., Gonzalez C., Delmas R., Thureau V., Jégou J.L., Thomas O., Constant P., 2001, « Système de détection et d'analyse en continu de micro-polluants organiques » Séminaire GEMCEA, Métrologie dans les milieux aquatiques et les eaux urbaines, Nancy, avril 2001.

- Delmas R., Cavalin G., Bryere P., 2004, « Système de détection et d'analyse en continu de micro-polluants organiques », Colloque SeaTechWeek 04 (Semaine Internationale des Technologies de la Mer), Brest, 20-21 oct. 2004 (Actes du congrès sur CD/ROM Ifremer.)

- Lénès D., SPDE, 2005, « Cyanobactéries : les traitements – Conférence introductive » ; Journée scientifique EDVE/SPDE sur les Cyanobactéries, 6 juin 2005.

- Nakache F., Mainguy J-M., Wirth J., Greneche C., 2001, « Cyanobactéries : exemple d'un cas de bloom apparu dans un barrage en Normandie ; réactions face à la crise », TSM n°9, septembre 2001, pp 84 -95

- Nakache F., SPDE, 2005, « Cyanobactéries : la ressource – Problèmes rencontrés par les traiteurs d'eau » ; Journée scientifique EDVE/SPDE sur les Cyanobactéries, 6 juin 2005.

ANNEXE 1

DOCUMENTATION TECHNIQUE RELATIVE A LA SONDE MICROFLU BLUE (TRIOS)

MicroFlu-blue

low-cost blue algae fluorometer

TriOS Optical Sensors

Features:

MicroFlu-chl is a low-cost miniaturized submergeable fluorometer for high-precision and selective chorophyll fluorescence measurements in blue algae. The combination of a miniaturized design with long-term stability makes it suitable for blue algae monitoring applications in lakes and rivers as well as for all applications in the field of water quality and waste water monitoring.
Internal reference measurement of the emitted light compensates aging and temperature dependences of the high-efficient LEDs, used for fluorescence excitation.

- high sensitivity
- wide operation range
- fast acquisition
- electronic daylight compensation
- miniaturized design
- low power consumption
- low cost
- easy to handle
- RS232 interface
- additional analog data output
- automatic sampling after power-on
- fully RS232 controllable
- easy to use Windows software package
- RS232 auto power down if not connected/used

Light source	Ultra-bright amber LEDs (peak wavelength at 590nm) Output energy controlled by internal reference diode
Detector	Photo-diodes with interference filter (peak wavelength 685nm, 20nm FWHM)
Ranges	0..10µg/l, 0..100µg/l auto-ranging (RS232 only) or pre-set
Sensitivity	0.1µg/l
Interface	RS232 (internal command interpreter for measurement control) and one 0..5V analog out
Power supply	5 - 14.5 VDC, max. 250mW
Housing	Seawater resistant plastic, stainless steel
Size	∅48 x 200mm (without connector)
Depth range	500m (other versions on request)
Connector	SUBCONN Micro 5pin, male
Weight	Approx. 0.5 kg in air

TriOS GmbH
Werftweg 15
D-26135 Oldenburg
Germany, info@trios.de
fon +49 (0) 441 / 4 85 98-0
fax +49 (0) 441 / 4 85 98-20

www.trios.de

Contacts TRIOS: **Rüdiger Heuermann – Directeur**
Karin Munderloh – Responsable calibration
Contact AQUAMS (Revendeur en France) : M. Vasseur

TriOS Optical Sensors

manual

microFlu-blue

miniature fluorometer for phycocyanin detection
in blue algae (cyanobacteria)

release: 2007-04-18

TriOS GmbH
Werftweg 15
26135 Oldenburg
Germany

fon: +49 (0) 441 48598 0
fax: +49 (0) 441 48598 20

support@trios.de
www.trios.de

Instrument Description 3
Theory of Operation 4
Operation 5
Use with power supply and PC 7
TriBOX connection 8
Integration into third-party control systems 9
Quick functional check 9
Mounting 9
Cleaning/Servicing 10
Calibration 11
Connectors 12
Software 12
Warranty 12
Contact information 13

Instrument Description

This manual describes the use and the principles of operation of the TriOS MicroFlu-blue miniature fluorometer.

All MicroFlu-blue units have a RS232 and an analog (0..5VDC) data output, so they can be operated with digital voltmeters, CTDs and data-logging devices as well as with all other TriOS instruments, like the RAMSES radiometer, transmissiometers, nitrate analyser, using the same accessories.

A built-in microcontroller allows user settings of gain, number of internal data averages, power control and calibration coefficients. All settings are stored internally and reloaded automatically after power on.

Using TriOS MSDA software packages, devices and their actual settings will be automatically identified.

Theory of Operation

The microFlu-chl miniature fluorometer allows the user to monitor online cyanobacteria concentrations by directly measuring the amount of phycocyanin fluorescence emission from a given sample volume. Phycocyanin is excited by an high efficient pulsed LED at 620nm, using the absorption characteristics of phycocyanin as the dominant antenna pigment in cyanobacteria.

MicroFlu-blue uses a ultra-bright LED in a pulsed mode to provide the excitation light. A small percentage of the excitation light is reflected by a dicroitic beam-splitter (Short Wave Pass SWP) and is used as a reference signal to evaluate variations of the excitation energy.

The excitation beam is focused approx. 15mm in front of the window by a small lens. Fluoresced light is collected by the same lens, reflected by the dicroitic beam-splitter due to the longer wavelengths of the fluoresced light and detected by a large area photodiode. An interference filter (CWL 655nm) is used in front of the photodiode to discriminate stray-light.

A special developed circuitry eliminates the influence of ambient light, which is normally present in surface waters.

The principle optical configuration is shown in fig.1.

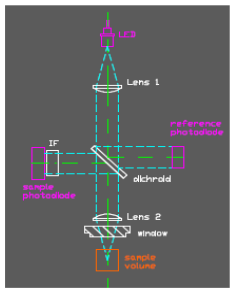


Fig.1 Optical layout of MicroFlu-blue devices

Operation

All microFlu-blue fluorometers are delivered with a SUBCONN-5pin underwater connector. To use, plug the interface cable's (PUR-SUB-M8/xx m) in-line connector into the bulkhead connector on the microFlu by carefully aligning pins of the bulkhead connector with the sockets on the in-line connector.

Fig. 2 mounting of the underwater connection cable to the sensor

In the next step turn the locking-sleeve clockwise to tighten in-line connector on the bulkhead connector.

Use with power supply and PC

For many applications a PC can be used as a controlling device e.g. in the lab. For this the use of a power supply PS101+ (85..265VAC/12VDC) or an interface and power supply IPS104+ is a reliable solution. The front panel of the unit includes 3 LEDs. The green one indicates that the system in powered on. The other two yellow LEDs are indicating the status of the RS232 lines. The CMD LED monitors the PC connection and activities, the DATA LED monitors the connected sensor line. Both show the following functionality:

- off: no sensor/PC connected, (or maybe a damage or error in the cable)
- half-power: sensor/PC connected, no data transfer
- full-power: data is transmitted

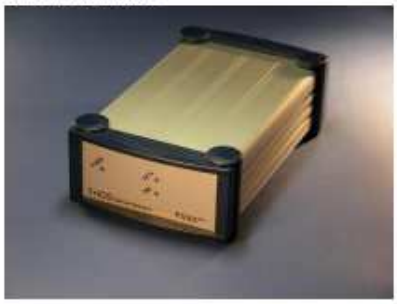


Fig. 4 The PS101 power supply

The sensor is connected to the PS101+/PS201+ units via the M8 industrial connector mounted on the sensor connection cable. Take care during the mounting that the pins are aligned with the sockets.

PC connection is done via a RS232 9pin connector. A matching cable is delivered with the power supply. Connect the other side of the cable to the serial port of your PC. Special adapters for USB interfacing are available from TriOS.

Use the delivered line connector to supply line voltage to the unit. All PS101+/PS201+ units have a built-in AC/DC converter. Input voltages between 85..265VAC (50..60Hz) are accepted.

Fig. 5 Cable connections to the PS101 power supply

Install the MSDA-XE software on your PC system. Refer to the MSDA-XE manual for further instructions.

TriBOX connection

TriBOX is an on-line display and controlling system for fixed stations, e.g. environmental monitoring stations, industrial plants, etc. It allows the connection of several sensors, offers data-logging functionality, various type of interfaces (e.g. 4..20mA, network, USB, GSM modem). Please refer to the TriBOX manual to obtain how to connect the sensor to the interface box.

Integration into third-party control systems

MicroFlu-blue sensors can easily be integrated in third-party control system, using the 0..5VDC analog output of the sensor. As the reading on this output is linear over its full range it gives directly a measure for the concentration of the substance. Calibration coefficients are stored internally in the sensor and the output values are giving directly the concentrations. Depending on the selected range of measurement the 5V output signal is either equal to the max. value of the low-range or the max. value of the high-range of the sensor. An additional correction due to the possible offset and amplification factor of the connected third-party system might be required.

Quick functional check

To check the proper functioning of the installed sensor, perform the following steps:

- ensure that the sensor is powered and sampling is active
- put a piece of white paper (no recycling paper) in front of the window
- you should see red light from the LED
- the signal on your display or controlling system should vary with the distance of the paper from the window

Note: The reading in air might not be zero due to reflections on the window surface or other reasons. This is a normal instrument behaviour and not a malfunction. If the instrument is proper calibrated, readings should be zero in pure water.

Mounting

MicroFlu-blue sensors can be used either as submersible units or as in-line sensors. In both cases, clamps similar to the ones shown in fig. 6 should be used for a correct mounting. Alternatively, the microFlu-blue sensors can be submerged directly using a cable mounted on sensor.

Fig. 6 Example of useful mounting clamps for the microFlu-blue sensor

Note: When submerging the sensor, visually inspect the optical window for bubbles. If bubbles are present, gently rock the instrument from side to side until the bubbles are dislodged.

Cleaning/Servicing

Depending on the actual type of application, a cleaning of the optical window should be performed on a regular basis to obtain reliable fluorescence readings.

First step of the cleaning process should be to rinse the sensor with freshwater to remove mud and particles. Use a clean tissue to dry the window afterwards.

To prevent the system from damages, we are recommending to use the parts included in the 'optical cleaning set' from TriOS and to follow the supplied instructions. This set includes a proven solvent, optical tissues and a special tool for handling. The use of other solvents might damage the material. Damages caused by an improper cleaning are out of warranty.

Beside the regular cleaning of the optical window the no additional servicing is required.

Note: Damages caused by an improper cleaning are out of warranty.

Calibration

The sensors are delivered with a factory calibration, which is stored internally in the sensors. Therefore the readings (digital or analog) are representing calibrated values.

The transfer (or calibration process) from raw fluorescence readings to substance concentrations is general following the equation

$$F_{[conc]} = a \cdot (F_{[counts]} - Offset)$$

with

$F_{[conc]}$	substance concentration in physical units
$F_{[counts]}$	fluorescence reading in counts
a	linear calibration factor in physical units per count (scaling factor)
$Offset$	offset value

The offset and the scaling factors are stored internally for both measuring ranges (amplification LOW and HIGH) in the sensor.

The factory calibration of the microFlu-blue is done like this:

- The offset values (for both ranges) are derived by using pure water (free of humic and fulvic acids; e.g. millipore water)
- The scaling factors are determind by using standard solutions of C-Phycocyanin (Prozyme PB11) in dist. Water. Multiple point calibration is chosen with at least two standard solutions for each amplification. Typical concentrations for the standard solutions are 10 and 20 µg/l for the HIGH-Channel and 10, 20, 100 and 200 µg/l for the LOW-Channel.
- The solutions are filled in a glass beaker (no plastic beakers – plastic fluoresces and will interfere with the sample fluorescence), which offers at least 8-10 cm free view between the sensor head and the bottom of the beaker (e.g. 250 ml beaker, high form). Below the beaker a dark/black non-reflective surface is required to minimize errors due to reflections. Any artificial light is switched off during the calibration process.

The factory calibration should not be changed!

If you need other calibration factors you can use the "Post-Calibration" of the MSDA-XE software package.

Fluorescence response of in vivo phycocyanin varies with the species of phytoplankton, the ambient conditions, like ambient light level, nutrients, etc.. Due to

this, the scaling factor between phycocyanin in dist. Water (which is used for instrument calibration) and in vivo phycocyanin also varies.

For this reason the user is recommended to carry out a post-calibration using the species of phytoplankton most likely to be encountered in deployment.

Connectors

MicroFlu-blue devices are delivered with a SUBCONN-Micro 5 pin male connector (stainless steel or titanium version).

RS 232 interface	
Male Face View	1. Ground 2. RS232 RX (commands) 3. RS232 TX (data) 4. Power 5. Analog out (0..5 Volt DC)

For a proper operation please use only original TriOS connection cables (ordering code: PUR-SUB-M8/xx or similar) and accessories.

Software

Please refer to the MSDA_XE software user manual.

Warranty

Warranty time is 2 years following the date of invoice. Excluded from warranty are all parts of the instrument which are normal consumables, e.g. light sources. Warranty is bounded to a proper use of the instrument and accessories, e.g.

- The instrument and attachments must be installed, powered and operated in compliance with the directions in this manual.

- Damage resulting from contact with incompatible materials, fluids or gases (e.g. corrosive, acid or solvent materials, fluids or gases) is not covered.
- Damage incurred by shipment is not covered.
- Damage by improper treatment by the customer is not covered.
- Damage by modification of the instrument or mounting improper parts by the customer is not covered.
- Do not open the instrument!

We strongly recommend a factory check-up and (if required) a re-calibration once per year.

Contact information

We are always working to improve our products. Please check our website for updates.

You have found an error in this instrument/program, or you would like to see some additional features enabled in a future version?

Feel free to contact us at: support@trios.de

Our website: www.trios.de

TriOS Mess- und Datentechnik GmbH
Werftweg 15
D- 26135 Oldenburg
Germany
fon +49 (0) 441 4 85 98 -0
fax +49 (0) 441 4 85 98 -20

ANNEXE 2

PRESENTATION DE L'AQUAPOD D'HOCER

(Source Hocer IS)